中国生态农业学报 2016 年 11 月 第 24 卷 第 11 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Nov. 2016, 24(11): 1508−1520

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.160504

不同烤烟品种幼苗形态结构及光合参数对干旱胁迫响应机制的差异*

陈 征[1] 许嘉阳[2] 范艺宽[3] 黄五星[1] 王佩雯[1] 温心怡[1] 许自成[1**]

(1. 河南农业大学烟草学院 郑州 450002; 2. 中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100193;
3. 河南省烟草公司烟草研究所 郑州 472000)

摘 要 为了比较不同烤烟品种的苗期耐旱性差异, 选用河南烟区主栽烤烟品种'豫烟 6 号'、'豫烟 10 号'、'豫烟 12 号'和'中烟 100'为供试材料, 利用浓度为 15%的聚乙二醇(PEG-6000)模拟中度干旱环境, 研究不同烤烟品种幼苗生物量、根系形态、叶片气孔特征、叶绿体超微结构和光合参数等指标对干旱胁迫响应机制的差异。结果表明: (1)干旱刺激了幼苗根系生长, 抑制了地上种幼苗根冠比均显著提高; '豫烟 6 号'和'豫烟 12 号'幼苗根系生物量、总根长、根系表面积和根系体积均显著增加, 但根系平均直径与对照无显著性差异; 而'豫烟 10 号'和'中烟 100'根系形态指标增加幅度较小, 仅有'豫烟 10 号'根系表面积显著增加, 而根系平均直径均显著下降。(2)干旱引起'中烟 100'叶片气孔总面积比对照显著增加, '豫烟 12 号'仅有气孔长度比其对照增加显著。(3)干旱处理后, '豫烟 6 号'和'豫烟 12 号'叶绿体整体结构变化不大, 而'豫烟 10 号'和'中烟 100'中叶肉细胞叶绿体被膜分解, 与细胞壁分离; 其中'中烟 100'叶绿体平均长度、长宽比和面积均显著降低。(4)与对照相比, 干旱组叶片光合作用被抑制, 其中'豫烟 10 号'和'中烟 100'叶片净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)均显著下降, 而胞间 CO_2 浓度(C_i)显著上升, 说明干旱胁迫下烤烟光合速率下降是非气孔因素所致。(5)干旱胁迫后'豫烟 6 号'和'豫烟 12 号'叶片叶绿素总量显著增加, 而'豫烟 10 号'和'中烟 100'却呈下降趋势。结果表明, '豫烟 6 号'和'豫烟 12 号'是耐旱型品种, 而'豫烟 10 号'和'中烟 100'抗旱性较差, 抗旱能力排序为'豫烟 6 号'>'豫烟 12 号'>'豫烟 10 号'>'中烟 100'。

关键词 干旱 烤烟 根系形态 气孔特征 叶绿体超微结构 光合特性
中图分类号: S311 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2016)11-1508-13

Response of morphological structure and photosynthetic parameters to water deficit in four flue-cured tobacco cultivar seedlings*

CHEN Zheng[1], XU Jiayang[2], FAN Yikuan[3], HUANG Wuxing[1], WANG Peiwen[1], WEN Xinyi[1], XU Zicheng[1**]

(1. College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. Tobacco Research Institute of Henan Provincial Tobacco Company, Zhengzhou 472000, China)

Abstract Drought is one of the many environmental factors which affect the growth and development of plants in many regions of the world due to climate change. The effect of moderate drought stress on seedling biomass, root morphology, stomatal characteristics, chloroplast ultra-structure and photosynthetic parameters of four flue-cured tobacco cultivars (Y6, Y10, Y12 and ZY100) were investigated in a hydroponic experiment with polyethylene glycol (PEG-6000) simulating

* 国家自然科学基金项目(31200393)和河南省烟草公司科技攻关项目(HYKJ 201405)资助
** 通讯作者: 许自成, 主要研究方向为烟草营养、品质生态与质量评价。E-mail: zichengxu@126.com
陈征, 主要研究方向为烟草品质生态与质量评价研究。E-mail: zchen1004@126.com
收稿日期: 2016−05−31 接受日期: 2016−08−09

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31200393) and the Scientific Program of Henan Provincial Tobacco Company (HYKJ 201405).
** Corresponding author, E-mail: zichengxu@126.com
Received May 31, 2016; accepted Aug. 9, 2016

moderate drought stress to evaluate drought tolerance of different flue-cured tobacco varieties. The results showed that the roots and leaves of different cultivars of tobacoo under moderate drought stress had different physiological responses. (1) A close relationship was noted between root growth and water supply in this study. The moderate drought stress stimulated root growth of flue-cured tobacco seedling, while it inhibited shoot growth. Root to shoot ratio of the 4 flue-cured tobacco cultivars significantly increased under drought stress conditions compared with that of control. Root biomass, total root length, root surface area and root volume of Y6 and Y12 significantly increased while root average diameter decreased. Then roots of Y10 and ZY100 were sensitive to moderate drought stress where root morphology index increased little or even decreased. Although the average diameter of the 4 flue-cured cultivars seedlings decreased significantly, root surface area of Y10 increased significantly. (2) Drought stress significantly decreased stomatal density while increasing both stomatal length and width of Y6, Y12 and Y10. There was a significant difference in stomatal density of ZY100 seedlings between the control group and the drought stress group. However, no significant difference was observed in stomatal width of the four flue-cured tobacco cultivars seedlings. Total pore area per leaf area of ZY100 significantly increased under drought stress. (3) Chloroplast ultra-structure of Y6 and Y12 was slightly changed under drought stress and the change was more obvious in Y10 and ZY100 cultivars. The shape of chloroplast in mesophyll cells changed and separated from cell wall, which destroyed chloroplast integrity. The average length, length-width ratio and area index of chloroplast decreased significantly for ZY100 seedlings under drought stress. (4) Net photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r) and stomatal conductance (G_s) of the 4 cultivars seedlings declined, while intercellular CO_2 concentration (C_i) increased significantly in response to drought stress. This indicated that the decline in photosynthesis was as a result of the absence of stomatal restriction under moderate drought stress. The differences between drought group and control group were significant for Y10 and ZY100 seedlings. (5) Under drought stress, the chlorophyll contents of Y6 and Y12 increased significantly, while that of Y10 and Z100 increased slightly or even decreased. The comprehensive analysis showed that Y6 and Y12 were drought resistant cultivars, and Y10 and ZY100 were drought sensitive cultivars. Drought resistance ability of the 4 flue-cured tobacco cultivars was in the order of Y6 > Y12 > Y10 > ZY100 at seedling stage.

Keywords　Drought stress; Flue-cured tobacco; Morphological structure of root; Stomatal characteristics; Chloroplast ultra-structure; Photosynthetic characteristics

作为植物生长发育进程中遭受的主要逆境形式之一，干旱胁迫对农作物造成的损失在所有非生物胁迫中占据首位，仅次于生物胁迫中病虫害所造成的损失，由气候恶劣变化引起的干旱频率和强度增加是影响现代农业生产高效发展的主要因素[1−2]。在遭受水分胁迫时，植物通过改变自身一系列形态结构或物质组成使其保持在一个相对稳定的水势范围内[3]。根系首先通过膨压变化和膜受体感受到干旱胁迫信号，并传递至地上部分，引起叶片气孔关闭，以减少蒸腾作用下的水分散失，根系自身也通过其形态、生理方面的变化来适应干旱环境[4−5]。叶片器官在干旱适应进程中起着非常重要的作用。叶片是光合作用的主要场所，而光合作用是植物生命活动过程中的重要组成部分，对水分胁迫的反应较为敏感[6]；干旱胁迫会严重影响叶片的性状，即使在轻微的干旱条件下，叶片生理功能的改变也可成为植物生长的限制因子；过度水分亏缺可引起叶片内叶绿素含量发生明显改变，破坏叶绿体的光合机构系统，导致光合作用受到严重抑制，进而抑制作物的生长[7−9]。水分亏缺是如何影响根系的水分吸收和运输，作物又是如何通过根系的形态结构变化来改变叶片组织结构，进而影响其气孔运动调节及光合代谢进程这一系列问题一直是作物逆境生态学的研究热点[10−11]。

研究表明，作物对干旱的反应除受遗传特性影响外，还取决于其形态结构、光合代谢能力和生育时期等因素[12]。小麦(*Triticum aestivum* L.)[13−14]、玉米(*Zea mays* L.)[15]和水稻(*Oryza sativa* L.)[16]等农作物对干旱胁迫的响应机制已有较深入研究，而作为我国的第一大经济作物烟草(*Nicotiana tabacum* L.)，因其对外界生长环境变化极为敏感[17]，干旱缺水会严重损害烟叶品质[18]，虽然关于烤烟大田期对干旱的光合生理反应的研究屡有报道，但对主栽烤烟品种苗期耐旱性差异的研究尚很薄弱。河南烟区是“浓香型”特色优质烟叶的主产烟区，夏季高温干旱往往会严重损害烟叶品质，降低初烤烟叶等级；又因烤烟品系繁多且品种间耐旱差异较大等因素，多数植烟区烤烟生长状况表现不一，品种缺乏系统的抗旱性鉴定，适种栽培应用的盲目性较大。因此，研究干旱胁迫下烤烟品种间抗旱性指标响应差异对于生产上抗旱性烤烟品种的引育与筛选具有指导意义。本文以15%浓度的PEG-6000溶液模拟中度干旱环境，

分析了水分亏缺对烤烟生物量、根系形态结构、叶片气孔特征、叶绿体超微结构、叶绿素含量和光合特性等指标的影响，探讨了这些参数的变化与抗旱性的关系，最后对烤烟品种'豫烟6号'、'豫烟10号'、'豫烟12号'和'中烟100'的苗期耐旱性能进行了比较，以期为研究烟草对干旱胁迫的适应机制和筛选耐旱性烤烟种质资源提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用河南烟区主栽烤烟品种'豫烟6号'(Y6)、'豫烟10号'(Y10)、'豫烟12号'(Y12)和'中烟100'(ZY100)为试验材料，于2015年4月河南农业大学作物生理生化实验室人工气候室中育苗。利用长、宽、高分别为65 cm、43 cm、16 cm的塑料盒为水培器材，器材底部内置有抽水泵用于循环水溶液通氧，水培箱配套有60孔面板嵌于器材表面以便培育烟苗，水培液使用霍格兰(Hoagland)营养液配方制备。

1.2 试验处理

使用2%浓度次氯酸钠溶液对烤烟种子消毒10 min，自来水冲洗并浸种8 h后，将其逐个点入铺有海绵的育苗盘中，每个穴点入2~3粒，然后置于光照培养箱中进行催芽，温度设置为28 ℃。当烟苗长出两片子叶时，用镊子将其移栽到装有基质的漂浮育苗盘中，移入人工气候室中培养。待幼苗生长到一定高度时，选取形态长势基本一致的烟苗，小心剥落根上的营养基质并洗净根部后，用海绵和定植篮固定幼苗并插入水培箱面板孔上，每孔1株苗，在1/2倍Hoagland营养液中培养，每2 d换1次营养液，每天通气1次。待烟苗长至5叶1心时，将其移入到由营养液和PEG-6000调配的浓度为15%的水培液中进行渗透胁迫，此时干旱组水培液渗透压达到–0.6 MPa，可用于模拟作物中度干旱环境。对照组继续用Hoagland营养液培养，每个处理设置3次重复，每个重复5株烟苗。胁迫处理在人工气候室内进行，昼/夜温度为(28/20±2) ℃、湿度(80±5)%。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 烟株生物量测定

在干旱处理48 h时，每处理分别挑选5棵生长状况一致的幼苗，按部位将根、茎、叶分开，使用分析天平对各处理叶片鲜重称重，随后将各处理根、茎和叶分别在温度为105 ℃的烘箱中杀青10 min，再调至烘箱温度为75 ℃，待烟株烘干至恒重时称其根、茎和叶的干物质质量，最后从中计算出根冠比和叶片含水量。

1.3.2 根系形态指标测定

采用德国产制的WinRHIZ0 Pro 2008根系扫描仪扫描根系，取样时间为水分胁迫48 h后，首先将各处理烟株根系清洗干净，放入装有去离子水的塑料水槽中，用镊子调整根系避免出现较多的重叠。调用灰色模式进行扫描，以*.TIF格式保存，随后用与扫描仪配套的WinRHIZ0 2008根系分析软件对根系总长度、根系表面积、根总体积和根系平均直径进行定量分析。采用Wells等[19]的方法统计各烤烟幼苗的根长、根表面积、根体积、平均直径。

1.3.3 气孔特征参数调查

烟株干旱处理48 h后，剪取各处理烟苗的完全展开的第3片叶各5片，用解剖镊在叶片中部距叶脉1 cm位置撕取下表皮，用1%浓度的I-KI染色剂染色5~10 min。利用OLYMPUS BX 501光学显微镜在10倍目镜和40倍物镜下分别观察叶片气孔的特征，DP 72拍照和测量，挑选出20个清晰视野。统计所选20个视野内的气孔数目，计算气孔密度，每个视野测定3个气孔器长度和宽度，单个气孔面积参考椭圆形面积公式($A=\pi\times a\times b$，A为气孔面积，a和b分别表示1/2倍数的长半轴长与短半轴长)来计算[20]。

1.3.4 叶绿体超微结构的观察

样品叶绿体超微结构观察借鉴文志等[21]和Lichtenthaler等[22]的方法。在胁迫处理48 h时，每个处理选烟株第3片完全展开的功能叶各3片，用刀片在叶片中部距主脉1 cm处切割大小为2 mm×1 mm的矩形叶片，然后真空注入浓度为3%的戊二醛溶液中，置于4 ℃低温冰箱中固定7 d，使用环氧树脂对脱水后的叶片进行浸透包埋，切片制备利用莱卡EMUC 6型号超薄切片机，使用柠檬酸铅和醋酸双氧铀进行染色，最后采用日立H-7500型号透射电镜来观察叶绿体超微结构并拍取照片。

1.3.5 光合特性参数的测定

待测目标叶片定为各处理烟苗第3、4叶位的功能叶，在胁迫处理达到48 h时，采用Li-6400便携式光合仪在上午9:00—11:00时间段内测定烤烟幼苗叶片各项气体交换参数，包括净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)和胞间CO_2浓度(C_i)，水分利用效率(WUE)参考Peñuelas等[23]方法以P_n/T_r公式来计算。光合仪流速为500 μmol·s^{-1}，叶室温度为35 ℃，光照强度为1 300 μmol·m^{-2}·s^{-1}，每个叶片重复测量3次，每次重复测定3个叶片。

1.3.6 叶绿素含量的测定

参考李合生等[24]的方法，在干旱胁迫处理48 h

时剪取各处理烟苗完全展开的第3片叶各5片，先使用80%浓度的丙酮提取叶片叶绿素，利用分光光度计分别在663 nm、646 nm和470 nm波长下测定各处理吸光度值。在弱光下进行低温研磨操作，时间尽量短些，以避免叶绿素光分解效应，计算叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素(a+b)的含量。每个处理数据取3次重复的平均值。

1.4　数据处理

采用Microsoft Excel 2016初步处理数据；单因素方差分析采用SPSS 22.0，选用最小差异显著法(LSD)进行多重比较，比较对照组和干旱处理组差异的显著性；利用Sigmaplot 12.5软件绘制柱形图。

2　结果与分析

2.1　干旱胁迫对不同烤烟幼苗生物量的影响

不同品种烤烟对干旱胁迫的应答有较大差异。如图1A所示，干旱胁迫增加了烤烟幼苗的根干物质量，但供试烤烟品种增加幅度不同，Y6、Y12和Y10比各自对照均显著增加(P<0.05)，Y6的增加幅度最大，达67.3%，但ZY100较其对照增加并未达到显著水平(P>0.05)。同时，干旱胁迫导致各烤烟幼苗地上部干物质积累量降低，其中ZY100比对照质量下降了42.2%，达到极显著差异(P<0.01)(图1B)。由图3C看出，根干重的增加和地上部干重的减少使得烟株的根冠比大幅度增加。与对照相比，Y6、Y12、Y10和ZY100的根冠比分别增加了82.7%、86.1%、96.4%和124.3%。干旱处理后，Y10和ZY100叶片含水量显著降低，比对照分别下降了26.2%和47.6%，而Y6和Y12虽有下降，但差异不显著。这说明在干旱胁迫和对照之间，Y6和Y12烤烟品种幼苗受干旱胁迫生长变化幅度较小；而Y10和ZY100变化较大，对干旱胁迫响应较为敏感。

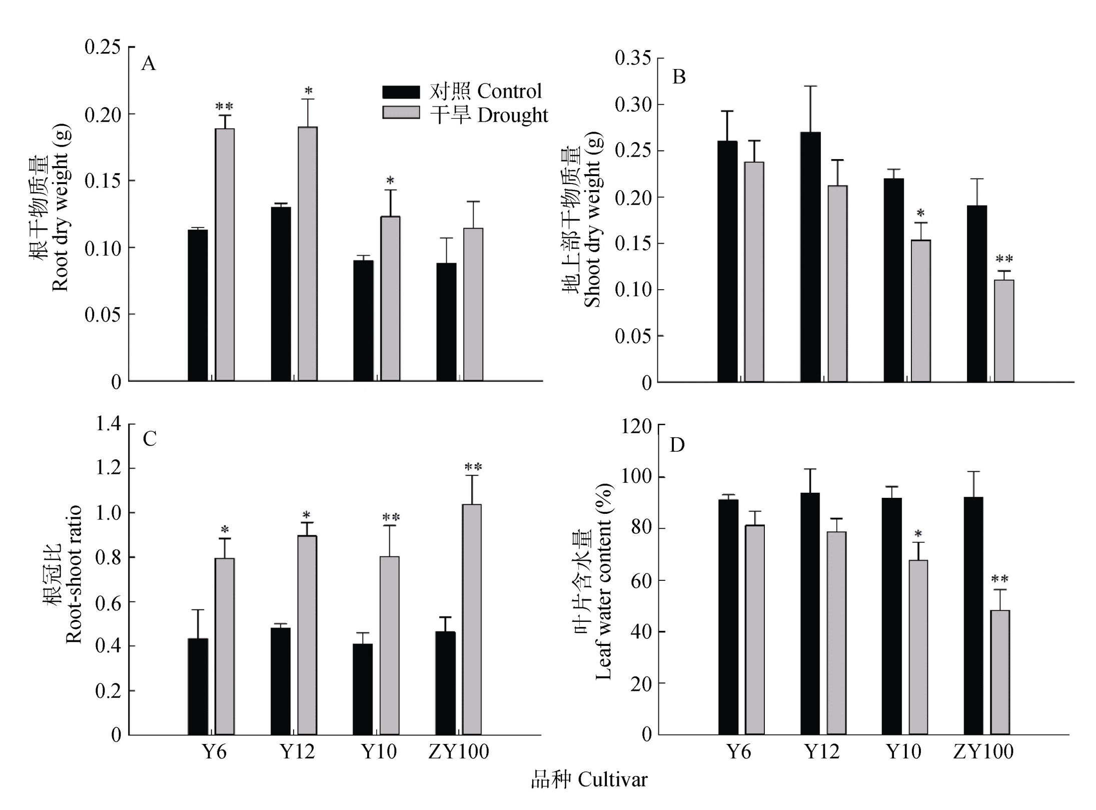


图 1　干旱胁迫对 4 个烤烟品种幼苗生物量的影响

Fig. 1　Effects of PEG-6000-simulated-drought stress on biomass of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars

Y6：豫烟6号；Y12：豫烟12号；Y10：豫烟10号；ZY100：中烟100。干旱组使用15%浓度的PEG-6000胁迫48 h。*和**表示对照组和处理组差异分别在5%和1%水平上显著。图中数据为平均值±标准误(n=3)。下同。Drought treatment was designed as seedlings treated with 15% PEG-6000 for 48 hours. * and ** indicate significant differences between control and drought stress treatments at 0.05 and 0.01 levels, respectively. Values are means ± S.E. The same below.

2.2　干旱胁迫对不同烤烟幼苗根系形态的影响

由图2可知，除ZY100品种根系发育受干旱胁迫抑制外，其他烤烟品种的根系受干旱胁迫刺激，单株总根长、表面积、根体积均出现不同程度增加。4个品种幼苗的根系平均直径受干旱胁迫后均呈下降趋势。而其余根系形态指标中，Y6和Y12均显著增加，Y10中仅有根表面积增加显著，但ZY100根系表面积和根体积均比对照减少，根系形态发育受到

抑制。如图2A所示，Y6和Y12受旱后根总长与对照组间差异均达到显著水平，相对增长率分别为54.4%和37.1%；而ZY100根总长仅比对照增加了9.2%，变化幅度最小，差异不显著，其地上部最先表现出叶片萎蔫、下端枯叶症状。水分亏缺还导致烤烟幼苗根系表面积增加，除ZY100表现轻微下降外，Y6、Y12、Y10分别比对照增加了57.1%、29.9%和9.8%，达显著水平(图2B)。干旱处理组和正常水分对照组相比，Y6和Y12幼苗根体积与显著增加，而ZY100根体积减少8.6%，受到小幅度抑制，二者间差异并不显著(图2C)。烤烟幼苗根系平均直径受干旱影响比其余形态参数表现较轻，4个烤烟品种幼苗平均直径相对增长率分别为–4.92%、–13.7%、–18.1%和–34.9%，以ZY100的下降幅度最大，以Y6幼苗表现最为稳定，其单株根系直径变化幅度最小(图2D)。

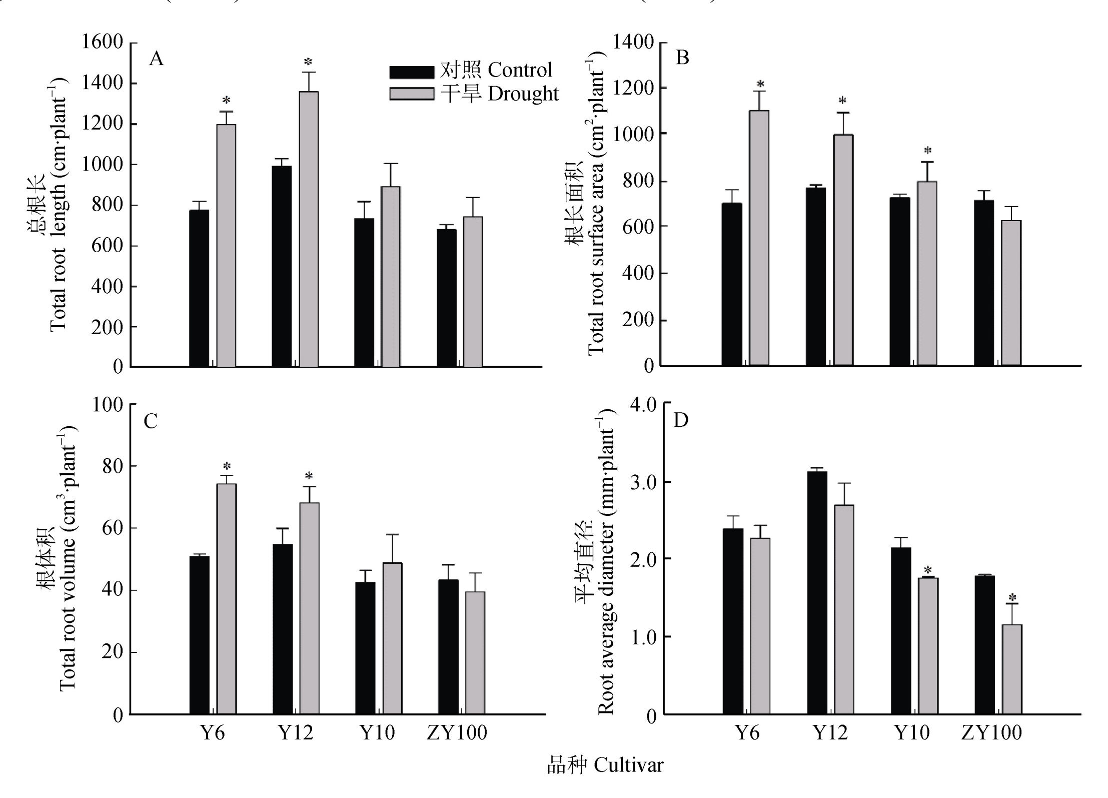


图 2 干旱胁迫对 4 个烤烟品种幼苗根系形态的影响

Fig. 2 Effects of PEG-6000-simulated-drought stress on total root length (A), total root surface area (B), total root volume (C), root average diameter (D) of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars

2.3 干旱胁迫对不同烤烟幼苗叶片气孔特征的影响

正常水分供应下，烤烟叶片气孔沿着叶脉分布并具有很强的规律性，不同的烤烟品种以及处理与对照之间的气孔分布情况相似，气孔规律地顺着叶脉方向排列，两行气孔之间分布有若干行表皮细胞，相临行的气孔大多错开分布(图3)。由表1可以看出，干旱引起不同烤烟品种幼苗叶片气孔发生变化，4品种幼苗叶面气孔长度和宽度不同程度增大，其中Y12叶片气孔长度增加显著，达20.32%。而气孔宽度的变化没有长度明显，水分胁迫后，Y6、Y12和Y10较对照增加均不显著，ZY100的气孔宽度甚至略有减小。同时，Y6、Y12和Y10的气孔密度均有所减小，但差异不显著，然而ZY100的叶面气孔密度比其对照却有显著增加。在受到干旱胁迫时，供试烤烟品种叶面单个气孔面积均呈现出增大趋势，其中Y12和Y10幼苗增加显著。气孔总面积却无明显变化；但不同品种烤烟幼苗气孔总面积变化存在差异，Y6和Y12的每平方毫米气孔总面积小幅度减少；而Y10和ZY100却比对照增大，ZY100较其对照气孔总面积增加了33.51%。这说明，在干旱条件下，不同烤烟幼苗叶片的气孔特征变化特点存在较大差异，这可能与烤烟品种不同的抗旱特性有紧密联系。

2.4 干旱胁迫对不同烤烟幼苗叶片叶绿体超微结构的影响

由图4发现，正常水分供应下，叶肉细胞叶绿体呈船形或长椭圆形排列在细胞边缘，外侧较平直，叶绿体基粒和基粒类囊体清晰可见，基粒类囊体垛叠层数多且排列整齐，整体结构完整。在受到干旱胁迫后，叶绿体整体结构有所改变，其形状由长椭圆形膨胀变为圆形，与细胞壁发生分离，接触面积

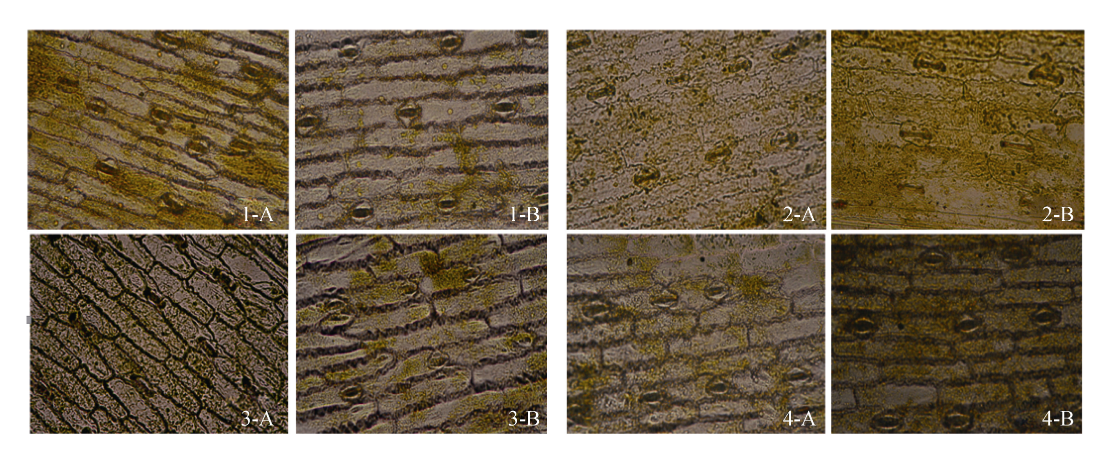


图 3　干旱胁迫下 4 个烤烟品种幼苗叶片气孔特征的显微观察

Fig. 3　Microscopic observation of leaf stomatal characteristics of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars under PEG-6000-simulated drought stress

1: 豫烟 6 号; 2: 豫烟 12 号; 3: 豫烟 10 号; 4: 中烟 100; A 和 B 分别表示对照组与干旱组。图 4 同。1: Y6; 2: Y12; 3: Y10; 4: ZY100. A and B represent control and drought stress treatments, respectively. The same as the figure 4.

表 1　干旱胁迫下 4 个烤烟幼苗叶片的气孔特征参数分析

Table 1　Leaf stomatal characteristics of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars under PEG-6000-simulated drought stress

品种 Cultivar	处理 Treatment	气孔密度 Stomatal density (mm^{-2})	气孔长度 Stomatal length (μm)	气孔宽度 Stomatal width (μm)	单个气孔面积 Stomatal area ($μm^2$)	气孔总面积 Total stomatal area ($μm^2·mm^{-2}$)
Y6	正常 Control	13.74±1.20	92.54±3.40	67.94±6.01	4 935.70±398.01	67 807.52±3 876.11
	干旱 Drought	11.93±1.91	97.92±9.81	69.91±9.81	5 373.40±782.80	64 107.49±7 927.20
Y12	正常 Control	16.27±2.32	92.15±5.91	67.79±10.22	4 903.53±185.91	79 774.96±2 958.31
	干旱 Drought	14.83±1.53	110.88±4.55*	75.46±7.55	5 868.33±295.54*	76 163.64±3 013.34
Y10	正常 Control	15.55±1.04	92.92±8.74	53.75±2.74	3 920.50±200.74	60 947.45±3 147.44
	干旱 Drought	14.86±0.76	93.33±7.49	60.00±8.89	4 996.00±190.49*	66 571.59±1 994.58
ZY100	正常 Control	14.48±1.01	97.80±10.01	78.04±5.91	5 991.65±471.01	93 145.23±5 710.01
	干旱 Drought	18.20±1.58*	109.52±6.94	76.93±1.99	6 614.54±513.70	124 350.69±7 136.26*

表中数据为平均值±标准误(n=3), *表示在 0.05 水平上差异显著, 下同。Data are means ± S.E. (n=3). * means significant difference between control and drought stress treatments at $P < 0.05$. The same below.

明显减少, 叶绿体被膜遭到破坏分解, 部分膜甚至变得模糊膨散, 整体结构发生紊乱。其中, 烤烟品种Y6和Y12幼苗的叶绿体结构在受干旱胁迫影响程度较轻, 仍能保持其典型结构状态; Y10叶绿体结构发生轻微紊乱; ZY100受旱后叶绿体膨胀变形, 基粒类囊体垛叠开始散乱排列, 基粒片层发生扭曲, 叶绿体中出现较多囊泡, 其对干旱胁迫的反应较为敏感。对电镜照片分析发现, 干旱处理后, Y6叶绿体大小、叶绿体面积、长宽比均呈现小幅度的下降, Y12同Y6的变化态势高度相似, 但不同的是受旱后其长宽比较对照稍微增加; Y10叶绿体面积较对照下降了10.7%, ZY100叶绿体大小、长宽比、叶绿体面积均明显下降, 除宽度外, 其他指标均显著变化(表2)。

2.5　干旱胁迫对不同烤烟幼苗叶片光合参数的影响

如表 3 所示, 中度干旱胁迫下, 各烤烟品种幼苗的气体交换参数如净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)均表现为下降趋势, 胞间 CO_2 浓度(C_i)却呈上升态势。不同烤烟幼苗的光合参数对干旱应答存在很大差异, Y6 和 Y12 品种各参数波动范围较小, 光合作用受干旱胁迫影响较轻, 处理和对照间的差异大都不显著; 而 Y10 和 ZY100 品种光合系统对水分亏缺响应较为敏感, 对照组和干旱组间光合参数差异均达到 5%或 1%显著水平。另外, 干旱胁迫后, Y12、Y10 和 ZY100 水分利用率(WUE)均低于正常条件下水平, 分别比对照下降了 11.1%、21.8%和 31.7%, 其中 ZY100 干旱组与对照组差异达极显著水平(P<0.01), 而 Y6 水分利用效率受旱后比对照仅上升 2.4%。

2.6　干旱胁迫对不同烤烟幼苗叶绿素含量的影响

正常水分条件下, 4 个烤烟品种幼苗叶片的叶绿素含量有所差别, 在受到水分胁迫时较各自对照表现出不同幅度的变化(图 5)。在受到干旱胁迫时, Y10 和 ZY100 的 Chl a 含量、Chl b 含量和 Chl (a+b)含量比各自对照均有所降低; 以 ZY100 下降幅度最为明

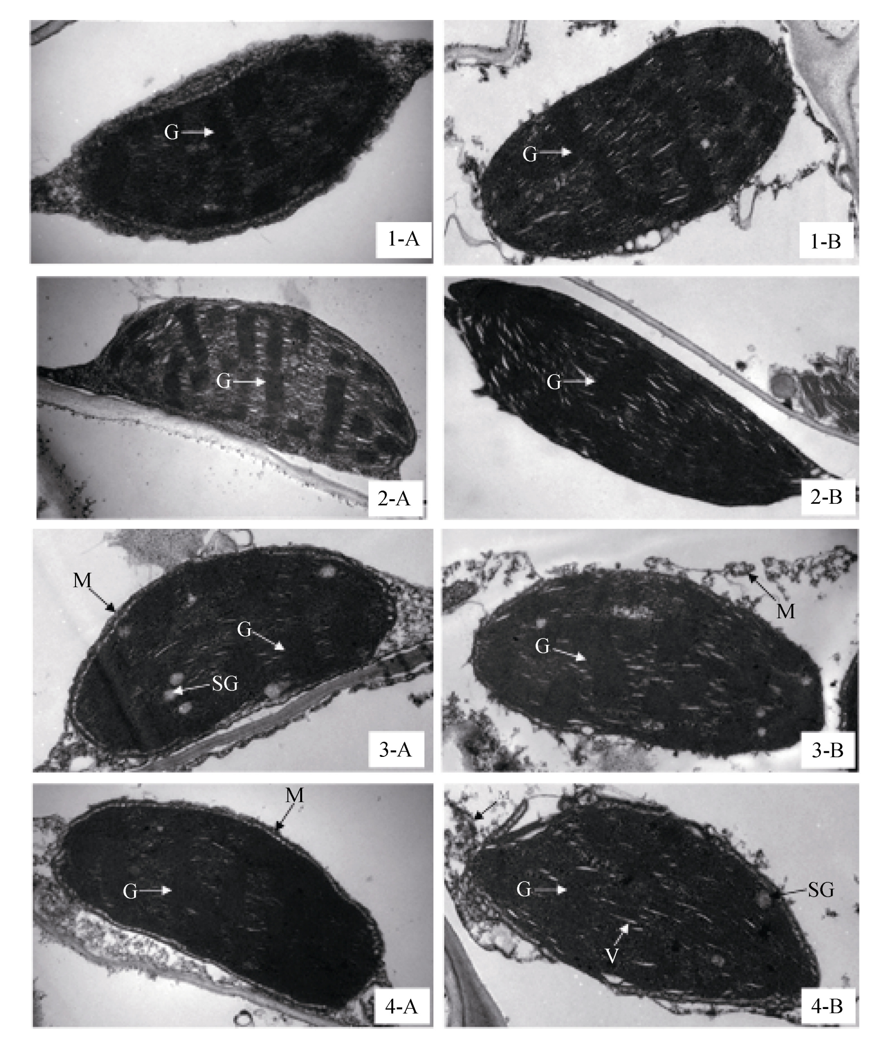


图 4　干旱胁迫下 4 个烤烟品种幼苗叶片叶绿体超微结构的透射电镜观察

Fig. 4　Transmission electron micrographs of leaf chloroplast ultrastructure of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars under PEG-6000-simulated drought stress

M: 叶绿体被膜; SG: 淀粉粒; G: 叶绿体基粒; V: 囊泡。M: membrane envelope; SG: starch grain; G: granum thylakoids; V: vesicle.

表 2　干旱胁迫下 4 个烤烟品种幼苗叶片叶肉细胞超薄切片的形态学分析

Table 2　Morphometric analysis of ultrathin sections of mesophyll cells f of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars under PEG-6000-simulated drought stress

品种 Cultivar	叶绿体平均长度 Average chloroplast length (μm)		叶绿体平均宽度 Average chloroplast width (μm)		叶绿体长宽比 Length-to-width ratio of chloroplasts		叶绿体面积占细胞面积比例 Cell area occupied by chloroplasts (%)	
	正常 Control	干旱 Drought	正常 Control	干旱 Drought	正常 Control	干旱 Drought	正常 Control	干旱 Drought
Y6	4.40±1.66	3.41±0.66	1.86±0.36	1.54±0.32	2.37	2.21	40.3±7.3	39.8±9.6
Y12	3.65±0.87	3.62±1.20	1.37±0.38	1.30±0.30	2.66	2.76	32.3±6.2	31.3±2.9
Y10	3.53±0.80	3.20±0.41	1.68±0.15	1.81±0.53	2.11	1.78	36.6±8.3	32.7±7.3*
ZY100	3.16±0.88	2.04±0.51*	1.34±0.40	1.11±0.40	2.36	1.84*	29.8±3.9	25.3±0.2*

表中每组数值由烤烟相同处理的 20 张叶片透射显微照片数据计算平均值。Data are averages of 20 micrographs of each flue-cured tobacco cultivar.

显，相应各叶绿素含量分别减少了30.86%、24.12%和28.31%; Y10品种只有Chl b的含量显著下降。而Y6和Y12品种叶片叶绿素含量较对照均有所增加，以Y6品种上升幅度表现最大，其叶片Chl a、Chl b和Chl (a+b)含量比对照分别增加23.34%、28.75%和24.91%。

3　讨论

作为吸收水分的主要器官，根系是植物体受到干旱胁迫时最先感应的部位[25]。根系的一些形态学

表 3　干旱胁迫对 4 个烤烟品种幼苗叶片气体交换参数的影响

Table 3　Effects of drought stress on gas exchange parameters of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars

品种 Cultivar	处理 Treatment	净光合速率(P_n) Net photosynthetic rate (μmol·m^{-2}·s^{-1})	蒸腾速率(T_r) Transpiration rate (mmol·m^{-2}·s^{-1})	水分利用效率 Water use efficiency (mmol·mol^{-1})	气孔导度(G_s) Stomatal conductance (mmol·m^{-2}·s^{-1})	胞间 CO_2 浓度(C_i) Intercellular CO_2 concentration (μmol·mol^{-1})
Y6	正常 Control	19.99±1.31	5.11±0.62	3.91±0.12	0.619±0.069	398.90±20.1
	干旱 Drought	17.98±1.07	4.49±0.28	4.00±0.15	0.545±0.021	432.89±21.97
Y12	正常 Control	19.84±1.47	4.95±0.29	4.01±0.19	0.504±0.056	505.52±15.26
	干旱 Drought	14.22±2.72*	3.99±0.69	3.56±0.28	0.329±0.058*	585.01±20.90
Y10	正常 Control	17.62±2.16	4.65±0.38	3.78±0.09	0.478±0.045	428.81±20.65
	干旱 Drought	9.46±2.72**	3.19±0.51*	2.96±0.13*	0.283±0.035**	529.34±30.29*
ZY100	正常 Control	17.09±1.11	3.33±0.26	5.13±0.27	0.594±0.077	485.52±60.22
	干旱 Drought	5.89±2.23**	1.68±0.42**	3.50±0.39**	0.208±0.061**	715.62±30.19**

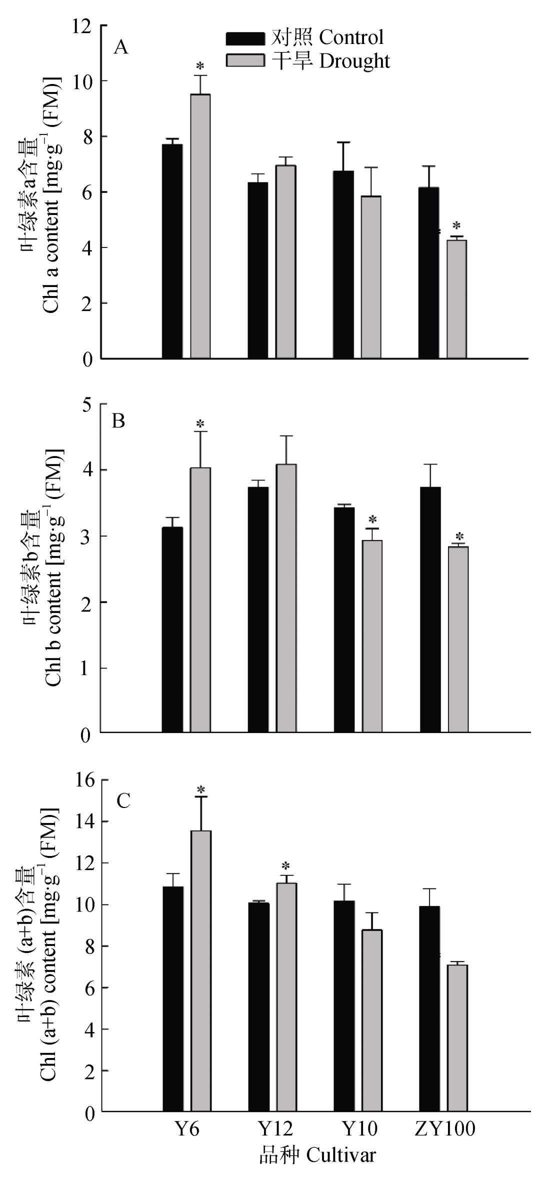


图 5　干旱胁迫对 4 个烤烟品种幼苗叶片叶绿素含量的影响

Fig. 5　Effect of drought stress on chlorophyll contents of seedlings of four flue-cured tobacco cultivars

参数如根长、根表面积、根体积及平均直径等表征着植株根系的健壮程度，与植物抗旱性关联紧密，并且这些根系性状能够稳定地遗传，可以作为植物抗旱性鉴定的有效指标[26–27]。本研究以 15%浓度 PEG 模拟中度干旱胁迫，发现供试烤烟幼苗的总根长、表面积和根体积总体呈增加趋势，而根系平均直径受到抑制。但 Leemhuis[10]认为适度干旱可以促进根系生长，而中度或重度水分胁迫对植物各生育时期均有抑制作用，这可能和植物所处地区气候环境不同或不同种属的植物受干旱抑制的临界值存在差异有关。同时，本试验中不同烤烟品种幼苗根系形态对同一干旱水平的响应表现不一，就根系表面积而言，干旱处理后，Y6 和 Y12 根系表面积显著增加，而 ZY100 却呈现降低趋势(图 2B)。据报道[28]，水分亏缺条件下，植株可通过各级侧根的快速分生进行补偿生长，根系表面积和根体积由此得到提高，使得根系与土壤的接触面积增大，从而维持根系在干旱缺水的状态下对水分的吸收效率，这可能是抗旱型作物根系耐旱表现之一。中度水分亏缺可能尚未达到 Y6 和 Y12 幼苗根系对干旱的耐受性阈值。从 4 种幼苗根系各形态学特征来看，Y6 和 Y12 的变化幅度明显高于 Y10 和 ZY100，可能是 48 h 的 PEG-6000 水分胁迫水平已远远超过 Y10 和 ZY100 的最佳浓度值，在同等干旱胁迫条件下，两烤烟品种根系形态发育受抑制的拐点显然要比 Y6 提前出现。

根系生物量是植物吸收营养物质的基础，发达的根系利于吸收更多的水分和养分，其和根系形态指标的变化表现同步[29]。Nejad [30]认为当根、冠的结构或功能处于较均衡状态时，二者生长比例协调，植株对资源的利用效率变现最佳。本研究发现，干旱胁迫导致烤烟根系干物质量增加，Y6和Y12较Y10和ZY100在受旱后根干物质重增加较大，减轻干旱对烟株的损害。烤烟根系和地上部生长在遭受干旱胁迫后均受到抑制，光合作用的产物优先分配给根

系部分，造成烟株根冠比增加，这与前人[31−33]的研究相似。根冠比可以反映出植株地上部分和根系的关联性，可用于表征光合产物在植株体内的分配特性，在一定程度上解释了植株对干旱环境的适应规律，它的变化能诠释出植株对干旱胁迫的适应机制，较高的根冠比不仅维持了地上部生理代谢功能，还优化了根系结构及生理特性，常被视为作物的抗旱性指标之一[34]。所以，烤烟幼苗受旱后其地上部首先受害，叶片表现出萎蔫之状，导致地上部物质积累的受损程度要大于根系。本试验中Y6和Y12的根冠比受旱后的变化幅度较小，表明其自身耐旱能力比较强，能够使地上部受抑制程度降低到最小，而此时15%浓度的PEG胁迫可能已接近或超过Y10和ZY100对干旱胁迫的承受极限，根冠比增加幅度较大，其幼苗地上部的生长受到严重抑制。

植物光合及蒸腾作用主要通过叶片气孔运动来调控，作为叶片同外界气体和水分交换的通道，气孔运动调节与植株的抗旱表现关联紧密，是水分胁迫下植物抵御干旱的机制之一[35−36]。Ache 等[37]发现植物叶片的径向水流直接依赖于叶片表面的气孔运动；Prado 等[38]也指出，气孔运动可调节植物叶片水分来维持脉管系统到内部组织的水分供应。干旱胁迫时，植物体通过减少自身蒸腾作用来保持水分平衡，而气孔运动调节在这一环节中起着重要作用，叶面上气孔数目、孔度大小及气孔面积等特征与植株抗旱表现联系紧密[39]。胁迫早期植物受干旱影响较轻，体内水分平衡主要通过加强水分吸收和减少水分蒸腾来维持，而当干旱程度超过植株的承受临界水平时，这一措施不足以维持植物体水分平衡，组织水势及膨压会显著下降，叶片气孔发育也由此受到严重影响[40−41]。Makbul 等[42]认为干旱处理可使植物叶片气孔减小，气孔密度和面积增大，这与本研究结果有部分相似之处。本试验表明，烤烟幼苗叶片气孔特征受水分亏缺的影响较大，气孔密度显著增加，这可能与叶面积缩小导致单位叶面积上的气孔数目增加有一定联系；同时，叶片气孔长度和宽度受旱后表现出同步增大效应。另一方面，气孔的大小和密度受遗传特性控制，因品种的不同而不同。本试验结果表明，4 个烤烟品种幼苗叶片气孔特征参数对同一干旱胁迫水平的变化表现不一，干旱胁迫引起耐旱型烤烟品种(Y6 和 Y12)的叶片气孔密度减少，单个气孔面积增加，而单位面积上的气孔总面积无显著变化。水分胁迫下，耐旱型品种叶片气孔特征的改变可以有效减少水分丧失，增强水分的传导，提高幼苗抵御干旱胁迫的能力。而敏感性烤烟品种(Y10 和 ZY100)单位面积上气孔面积变化较大，有明显的增加或者减少。这可能是由于烤烟幼苗在受到干旱胁迫时，在保证单位叶面积上气孔总面积不变的条件下，通过减小气孔密度，增加单个气孔的面积来减少烤烟幼苗的蒸腾作用，以适应干旱的环境。但是，Y10 和 ZY100 对干旱胁迫比较敏感，抵御干旱的能力较弱，叶片已经受到破坏，致使气孔总面积发生变化。本研究选用 4 个烤烟品种来研究干旱环境下的气孔变化，均表现出了干旱胁迫下叶片气孔特征的一致变化趋势。烤烟叶片气孔大小、面积和密度等参数受干旱胁迫影响程度存在差异，各参数变化趋势不尽相同，这说明干旱胁迫对气孔特征影响机制较为复杂，还需进一步研究。

稳定的叶绿体结构是保障植物光合作用正常运行的前提，干旱环境下，作物细胞膜脂受到过氧化损害，进而影响到叶绿体膜结构，导致叶绿体光合作用系统的紊乱和破坏[43−44]。本研究表明，干旱条件下，叶绿体结构遭到破坏，基粒片层的垛叠结构解体，嗜锇颗粒增多，且干旱缩水使得叶绿体开始慢慢脱离细胞壁，烤烟叶肉细胞叶绿体与细胞壁分离并膨胀变形，作为保护壁垒的叶绿体被膜开始解体，最终导致叶绿体完整性被破坏以及内部结构改变，且品种之间受旱程度存在差异，以耐旱性较差的品种幼苗表现最为明显。这与 Shao 等[43]和 Rehem 等[45]的研究结果相一致。此外，干旱处理后，烤烟品种 Y12 和 Y6 的叶绿体形状变化较小且整体结构相对完整，受干旱影响程度较小，耐旱性强；而 ZY100 对干旱胁迫的反应较为敏感，膜系统受破坏较为严重，叶绿体形状产生明显变化，叶绿体基粒类囊体及内部片层结构膨散，叶绿体整体结构不完整。这说明胁迫时叶绿体结构变化与其应对环境胁迫的能力有紧密的联系，不同的烤烟品种对干旱胁迫反应表现不一致，和敏感品种相比，耐旱型烤烟品种的叶绿体结构破坏较轻。因此，可以通过观察干旱胁迫下叶肉细胞叶绿体结构的变化进行烤烟抗旱性鉴定。

光合作用是植物进行代谢积累的基础，对外界环境变化较为敏感。已知，干旱胁迫条件下，植物光系统 Ⅰ 与 Ⅱ 间的光合电子传递链受到破坏，CO_2 同化进程和蒸腾作用均受到抑制[46−49]。研究表明，干旱胁迫下植物光合作用降低的原因包括两个方面：一方面是气孔因素限制，干旱胁迫初期首先是气孔关闭以减少蒸腾作用，进入气孔的 CO_2 浓度减少，

不能满足植物体光合作用的要求，导致植物光合作用下降；另一方面是光合作用的非气孔因素限制，由于叶绿体活性和核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性下降、核酮糖二磷酸羧化酶再生能力降低，导致叶片光合作用能力受挫[50−52]。Huseynova 等[53]认为当 G_s 与 C_i 同时下降时，P_n 下降则主要归咎于气孔限制因素，而本研究中 4 个烤烟品种受到 PEG 水分胁迫后，幼苗 C_i 并未同 P_n 呈现一致的下降趋势，表明此时幼苗光合速率下降的原因可能是由非气孔因素限制导致。其中 ZY100 光合参数变化幅度最为明显，Y6 受旱影响最小，指标参数无明显波动，Y12 和 Y10 指标变化幅度介于二者之间，说明烤烟幼苗光合特性对干旱的应答受其品种自身因素差异影响，这与 Goltsev 等[54]的研究结果相似，这种抗旱性的品种间差异是由植株自身基因差异所决定的。植物是通过蒸腾作用降低叶面温度，蒸腾主要表现为气孔蒸腾、角质层蒸腾和皮孔蒸腾等几种形式[55]。据报道，气孔蒸腾占据着植株总蒸腾量的 80%以上，气孔关闭则是蒸腾作用大幅下降的主要因素[56−57]。本研究发现，Y6 幼苗在水分短缺情况下仍能维持一定程度的蒸腾效率，其在叶片表皮气孔关闭的情况下仍然能够降低叶片温度，这可能是 Y6 品种在苗期能够更好地适应干旱环境的一种优势表现。Y6、Y12 幼苗叶片受旱后 T_r 和 G_s 下降幅度表现较为同步，而抗旱性差的幼苗(Y10 和 ZY100)叶片 G_s 和 P_n 显著下降，胞间 CO_2 浓度(C_i)上调，光合作用受限表现为主要受到非气孔因素影响。这种反应方式与前人的研究有相似之处[58]，说明 Y10 和 ZY100 中度干旱胁迫下光合速率降低可能是由于光能捕获效率和光合电子传递系统受干旱影响的结果[59−60]。而 Y10 和 ZY100 中 T_r 下降的幅度小于 G_s，二者关联性表现较弱，其中以 ZY100 幼苗表现最为明显，T_r 下降了 24.62%，而 G_s 下降了 64.98%(表 3)。造成这样的原因可能是这两份材料在中度干旱胁迫下叶片水分蒸腾的主要路径不是借助气孔，而是叶片角质层或皮孔。

干旱胁迫还可导致植物叶片叶绿素含量发生变化，叶绿素是正常植物叶绿体中所含有的主要光合色素，主要用于对光能的吸收传递和转化，其含量高低一定程度上影响着植物光合同化的水平，进而影响到植株的生长代谢进程，因此，叶绿素含量常被用于反映植物的生理状态和健康程度[61−62]。一般认为，当干旱胁迫程度逼近植物临界状态时，叶绿素开始降解并由此导致叶绿素含量下降[63]。本试验发现，叶绿素含量的变化可能还受其他因素影响，干旱胁迫会使叶片含水量下降(图 1)，导致叶绿素相对浓缩，和单位鲜重中的叶绿素含量增加[64]。另外，本研究中 4 个烤烟品种各叶绿素含量受旱后的变化情况存在较大差异，Y6 和 Y12 品种受旱后其叶绿素含量增加，而 Y10 和 ZY100 品种在干旱处理后其含量出现不同程度下降，作物品种因素对自身抗旱能力的贡献显而易见，这与 Viljevac 等[65]的研究结果有相似之处。其中，Y6 和 Y12 品种耐旱性表现较好，可能是 15%的 PEG 胁迫浓度尚未达到其叶绿素分解的临界值，各叶绿素含量在受旱后大幅度升高(图 4)。而 Y10 和 ZY100 抗旱能力在试验中表现较差，虽然叶片失水会引起单位鲜重叶绿素含量升高，但由干旱胁迫引起叶绿素的分解此时占据主导地位，导致二者叶绿素含量明显下降。

4　结论

Y6属于耐旱型烤烟品种，在受到干旱胁迫时，其能较好地维持叶片含水量、叶绿体结构、叶绿素含量、以及正常的光合作用和蒸腾作用，以缓解水分亏缺对幼苗造成的不利影响。而ZY100幼苗的生长易受到干旱胁迫的抑制，对水分胁迫响应较为敏感，抗旱性指标受旱后波动幅度较大；Y12和Y10抗旱能力处于两者中间，表现为中度抗旱水平。4份烤烟品种苗期抗旱能力排序为: Y6>Y12>Y10>ZY100。中度程度的水分亏缺对耐旱型品种影响较轻，甚至部分指标表现出利好刺激效果，然而却抑制了不抗旱品种幼苗的生长。

本文对烤烟苗期与抗旱性相关的形态结构指标进行了较多研究，但抗旱性生理生化指标对干旱胁迫的响应研究未做充分涉及，并且众多与抗旱相关的指标对干旱胁迫的响应也并非完全统一，这可能与作物自身不同部位或指标参数对其抗旱能力的应答存在差异有关，未来应对烤烟抗旱性相关指标进行抗旱贡献度排序，筛选出烤烟抗旱性鉴定的有效指标。另外，作物的抗旱能力不仅与抗旱性指标变化有关，还与干旱胁迫发生的时期有密切关系，这一系列抗旱性指标参数在烤烟团棵期、旺长期和成熟期等大田生育时期的响应机制是否同苗期表现一致还有待验证。

参考文献　References

[1] Rang Z W, Jagadish S V K, Zhou Q M, et al. Effect of high temperature and water stress on pollen germination and spikelet fertility in rice[J]. Environmental and Experimental Botany, 2011, 70(1): 58–65
[2] 邵瑞鑫, 李蕾蕾, 郑会芳, 等. 外源一氧化氮对干旱胁迫下

玉米幼苗光合作用的影响[J]. 中国农业科学, 2016, 49(2): 251–259
Shao R X, Li L L, Zheng H F, et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis of maize seedlings under drought stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(2): 251–259
[3] Ma X L, Xin Z Y, Wang Z Q, et al. Identification and comparative analysis of differentially expressed miRNAs in leaves of two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes during dehydration stress[J]. BMC Plant Biology, 2015, 15(1): 21
[4] 种培芳, 李航逸, 李毅. 荒漠植物红砂根系对干旱胁迫的生理响应[J]. 草业学报, 2015, 24(1): 72–80
Chong P F, Li H Y, Li Y. Physiological responses of seedling roots of the desert plant *Reaumuria soongorica* to drought stress[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(1): 72–80
[5] Tsakaldimi M, Tsitsoni T, Ganatsas P, et al. A comparison of root architecture and shoot morphology between naturally regenerated and container-grown seedlings of *Quercus ilex*[J]. Plant and Soil, 2009, 324(1/2): 103–113
[6] Teng K Q, Li J Z, Liu L, et al. Exogenous ABA induces drought tolerance in upland rice: The role of chloroplast and ABA biosynthesis-related gene expression on photosystem Ⅱ during PEG stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(8): 2219–2227
[7] Zhang Z F, Li Y Y, Xiao B Z. Comparative transcriptome analysis highlights the crucial roles of photosynthetic system in drought stress adaptation in upland rice[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 19349
[8] Ye J, Wang S W, Deng X P, et al. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2016, 38: 48
[9] Silva E N, Ferreira-Silva S L, de Vasconcelos Fontenele A, et al. Photosynthetic changes and protective mechanisms against oxidative damage subjected to isolated and combined drought and heat stresses in *Jatropha curcas* plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(14): 1157–1164
[10] Leemhuis J A F. Root development under drought stress[J]. Technology and Knowledge Transfer: E-Bulletin, 2011, 2(6): 1–3
[11] Franco J A, Bañón S, Vicente M M J, et al. Root development in horticultural plants grown under abiotic stress conditions — A review[J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2011, 86(6): 543–556
[12] Yuan Z, Wang B Q, Jiang Y, et al. Effects of uniconazole on physiological and biochemical properties of roots of different sweetpotato cultivars at seedling stage[J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(4): 629
[13] 单长卷, 赵新亮, 汤菊香. 水杨酸对干旱胁迫下小麦幼苗抗氧化特性的影响[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(1): 91–95
Shan C J, Zhao X L, Tang J X. Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant properties of wheat seedling under drought stress[J]. Journal of Triticeae Crops, 2014, 34(1): 91–95
[14] Yang S D, Zhou R L, Zuo J C, et al. Responses of different winter wheat cultivars to sodium salt and drought treatments[J]. Journal of Desert Research, 2012, 32(4): 947–954
[15] Shiri M R. Grain yield stability analysis of maize (*Zea mays* L.) hybrids under different drought stress conditions using GGE biplot analysis[J]. Crop Breeding Journal, 2013, 3(2): 107–112
[16] Phung T H, Jung H I, Park J H, et al. Porphyrin biosynthesis control under water stress: Sustained porphyrin status correlates with drought tolerance in transgenic rice[J]. Plant Physiology, 2011, 157(4): 1746–1764
[17] 许自成, 黎妍妍, 肖汉乾, 等. 湘南烟区生态因素与烤烟质量的综合评价[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 226–234
Xu Z C, Li Y Y, Xiao H Q, et al. Evaluation of ecological factors and flue-cured tobacco quality in tobacco-growing areas in southern Hunan, China[J]. Journal of Plant Ecology, 2008, 32(1): 226–234
[18] Hill S M. A study on crosses of oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) investigating genetic variation in yield, quality and drought tolerance[D]. Stellenbosch: University of Stellenbosc, 1995: 35–48
[19] Wells C E, Glenn D M, Eissenstat D M. Changes in the risk of fine-root mortality with age: A case study in peach, *Prunus persica* (Rosaceae)[J]. American Journal of Botany, 2002, 89(1): 79–87
[20] 郑国琦, 张磊, 郑国保, 等. 不同灌水量对干旱区枸杞叶片结构、光合生理参数和产量的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2806–2813
Zheng G Q, Zhang L, Zheng G B, et al. Effects of irrigation amount on leaf structure, photosynthetic physiology, and fruit yield of *Lycium barbarum* in arid area[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(11): 2806–2813
[21] 文志, 王丽, 王效科, 等. O_3和干旱胁迫对元宝枫叶片气孔特征的复合影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(3): 560–566
Wen Z, Wang L, Wang X K, et al. Combined effects of ozone and drought on leaf stomata of *Acer truncatum*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(3): 560–566
[22] Lichtenthaler H K, Kuhn G, Prenzel U, et al. Adaptation of chloroplast-ultrastructure and of chlorophyll-protein levels to high-light and low-light growth conditions[J]. Zeitschrift für Naturforschung, 1982, 37(1): 464–475
[23] Peñuelas J, Filella I, Llusià J, et al. Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and photobiology of the Mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*[J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(319): 229–238
[24] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
Li H S, Sun Q, Zhao S J. Plants Physiological Experimentation Guidance[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000
[25] 齐伟, 张吉旺, 王空军, 等. 干旱胁迫对不同耐旱性玉米杂交种产量和根系生理特性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(1): 48–52
Qi W, Zhang J W, Wang K J, et al. Effects of drought stress on the grain yield and root physiological traits of maize varieties

with different drought tolerance[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(1): 48–52

[26] Kano M, Inukai Y, Kitano H, et al. Root plasticity as the key root trait for adaptation to various intensities of drought stress in rice[J]. Plant and Soil, 2011, 342(1/2): 117–128

[27] Hoecker N, Keller B, Piepho H P, et al. Manifestation of heterosis during early maize (*Zea mays* L.) root development[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(3): 421–429

[28] 李帅, 赵国靖, 徐伟洲, 等. 白羊草根系形态特征对土壤水分阶段变化的响应[J]. 草业学报, 2016, 25(2): 169–177
Li S, Zhao G J, Xu W Z, et al. Responses of old world bluestem root systems to changes in soil water conditions[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(2): 169–177

[29] Huang B R, Fry J D. Root anatomical, physiological, and morphological responses to drought stress for tall fescue cultivars[J]. Crop Science, 1998, 38(4): 1017–1022

[30] Nejad T S. Effect of drought stress on shoot/root ratio[C]// Proceedings of World Academy of Science Engineering and Technology 57. 2011: 598–600

[31] Magnani F, Mencuccini M, Grace J. Age-related decline in stand productivity: The role of structural acclimation under hydraulic constraints[J]. Plant, Cell & Environment, 2000, 23(3): 251–263

[32] 王淑芬, 张喜英, 裴冬. 不同供水条件对冬小麦根系分布、产量及水分利用效率的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(2): 27–32
Wang S F, Zhang X Y, Pei D. Impacts of different water supplied conditions on root distribution, yield and water utilization efficiency of winter wheat[J]. Transactions of the CSAE, 2006, 22(2): 27–32

[33] Xu W, Cui K H, Xu A H, et al. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37: 9

[34] El-Rawy M A E, Youssef M. Evaluation of drought and heat tolerance in wheat based on seedling traits and molecular analysis[J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2014, 17(3): 183–189

[35] Borel C, Frey A, Marion-Poll A, et al. Does engineering abscisic acid biosynthesis in *Nicotiana plumbaginifolia* modify stomatal response to drought[J]. Plant, Cell & Environment, 2001, 24(5): 477–489

[36] Reynolds-Henne C E, Langenegger A, Mani J, et al. Interactions between temperature, drought and stomatal opening in legumes[J]. Environmental and Experimental Botany, 2010, 68(1): 37–43

[37] Ache P, Bauer H, Kollist H, et al. Stomatal action directly feeds back on leaf turgor: New insights into the regulation of the plant water status from non-invasive pressure probe measurements[J]. Plant Journal, 2010, 62(6): 1072–1082

[38] Prado K, Maurel C. Regulation of leaf hydraulics: From molecular to whole plant levels[J]. Frontiers in Plant Science, 2013, 4: 255

[39] 鱼腾飞, 冯起, 司建华. 极端干旱区多枝柽柳叶片气孔导度的环境响应模拟[J]. 植物生态学报, 2012, 36(6): 483–490
Yu T F, Feng Q, Si J H. Simulating responses of leaf stomatal conductance to environmental factors for *Tamarix ramosissma* in an extreme arid region of China[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2012, 36(6): 483–490

[40] Lei Y B, Yin C Y, Li C Y. Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*[J]. Physiologia Plantarum, 2006, 127(2): 182–191

[41] Xu Z Z, Zhou G S. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass[J]. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(12): 3317–3325

[42] Makbul S, Güler N S, Durmus N. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress[J]. Turkish Journal of Botany, 2011, 35(4): 369–377

[43] Shao R X, Xin L F, Zheng H F, et al. Changes in chloroplast ultrastructure in leaves of drought-stressed maize inbred lines[J]. Photosynthetica, 2016, 54(1): 74–80

[44] Vassileva V, Demirevska K, Simova-Stoilova L, et al. Long-term field drought affects leaf protein pattern and chloroplast ultrastructure of winter wheat in a cultivar-specific manner[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2012, 198(2): 104–117

[45] Rehem B C, Almeida A A F, Santos I C, et al. Photosynthesis, chloroplast ultrastructure, chemical composition and oxidative stress in *Theobroma cacao* hybrids with the lethal gene *Luteus-Pa* mutant[J]. Photosynthetica, 2011, 49(1): 127–139

[46] Ghotbi-Ravandi A A, Shahbazi M, Shariati M, et al. Effects of mild and severe drought stress on photosynthetic efficiency in tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes[J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2014, 200(6): 403–415

[47] Nikolaeva M K, Maevskaya S N, Voronin P Y. Activities of antioxidant and osmoprotective systems and photosynthetic gas exchange in maize seedlings under drought conditions[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2015, 62(3): 314–321

[48] Wang G P, Hui Z, Li F, et al. Improvement of heat and drought photosynthetic tolerance in wheat by overaccumulation of glycinebetaine[J]. Plant Biotechnology Reports, 2010, 4(3): 213–222

[49] Saglam A, Kadioglu A, Demiralay M, et al. Leaf rolling reduces photosynthetic loss in maize under severe drought[J]. Acta Botanica Croatica, 2014, 73(2): 315–323

[50] Lauteri M, Haworth M, Serraj R, et al. Photosynthetic diffusional constraints affect yield in drought stressed rice cultivars during flowering[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e109054

[51] Kovačević J, Kovačević M, Cesar V, et al. Photosynthetic efficiency and quantitative reaction of bread winter wheat to mild short-term drought conditions[J]. Turkish Journal of Agriculture & Forestry, 2013, 37(4): 385–393

[52] Zhou S S, Li M J, Guan Q M, et al. Physiological and proteome analysis suggest critical roles for the photosynthetic system for high water-use efficiency under drought stress in

Malus[J]. Plant Science, 2015, 236: 44–60

[53] Huseynova I M, Rustamova S M, Suleymanov S Y, et al. Drought-induced changes in photosynthetic apparatus and antioxidant components of wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties[J]. Photosynthesis Research, 2016: 1–9

[54] Goltsev V, Zaharieva I, Chernev P, et al. Drought-induced modifications of photosynthetic electron transport in intact leaves: Analysis and use of neural networks as a tool for a rapid non-invasive estimation[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 2012, 1817(8): 1490–1498

[55] Vilagrosa A, Morales F, Abadía A, et al. Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and leaf level processes in two Mediterranean drought-resistant species[J]. Environmental and Experimental Botany, 2010, 69(3): 233–242

[56] Shao G C, Yuan M, Liu N, et al. Effect of rain shelters and drought on leaf water status and photosynthetic parameters in tomato[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2014, 61(9): 1273–1288

[57] Sikder S, Foulkes J, West H, et al. Evaluation of photosynthetic potential of wheat genotypes under drought condition[J]. Photosynthetica, 2015, 53(1): 47–54

[58] Nielsen D C, Vigil M F, Benjamin J G. The variable response of dryland corn yield to soil water content at planting[J]. Agricultural Water Management, 2009, 96(2): 330–336

[59] Hnilička F, Hniličková H, Holá D, et al. Short-term effect of drought on the photosynthetic accumulation of energy in maize[J]. Növénytermelés, 2010, 59: 489–492

[60] Huseynova I M, Suleymanov S Y, Rustamova S M. Response of photosynthetic apparatus and antioxidant defense systems in *Triticum aestivum* L. genotypes subjected to drought stress[J]. Proceedings of ANAS (Biological Sciences), 2010, 65(5/6): 49–59

[61] Lu G H, Tang J H, Yan J B, et al. Quantitative trait loci mapping of maize yield and its components under different water treatments at flowering time[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2006, 48(10): 1233–1243

[62] Gong H J, Chen K M. The regulatory role of silicon on water relations, photosynthetic gas exchange, and carboxylation activities of wheat leaves in field drought conditions[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(4): 1589–1594

[63] Wang B Q, Li Z H, Eneji A E, et al. Effects of coronatine on growth, gas exchange traits, chlorophyll content, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in maize (*Zea mays* L.) seedlings under simulated drought stress[J]. Plant Production Science, 2008, 11(3): 283–290

[64] Macková H, Hronková M, Dobrá J, et al. Enhanced drought and heat stress tolerance of tobacco plants with ectopically enhanced cytokinin oxidase/dehydrogenase gene expression[J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(10): 2805–2815

[65] Viljevac M, Dugalić K, Mihaljević I, et al. Chlorophyll content, photosynthetic efficiency and genetic markers in two sour cherry (*Prunus cerasus* L.) genotypes under drought stress[J]. Acta Botanica Croatica, 2013, 72(2): 221–235